Journal of Agricultural Machinery

Homepage: https://jame.um.ac.ir

Research Article
Vol. 12, No. 2, Summer 2022, p. 231-240

Microscopic Investigation of Cold Plasma Effect on Chickpea Seed Germination

M. Fereydooni[1], H. Haji Agha Alizadeh[2*]

1- PhD student of Department of Biosystem, Faculty of Agriculture, BuAli Sina University, Hamedan, Iran
2- Accociate Professor, Department of Biosystem, Faculty of Agriculture, BuAli Sina University, Hamedan, Iran
(*- Corresponding Author Email: h-alizade@basu.ac.ir)

Received: 18-09-2020 Revised: 19-10-2020 Accepted: 25-11-2020	**How to cite this article:** Fereydooni, M., and H. Haji Agha Alizadeh. 2022. Microscopic Investigation of Cold Plasma Effect on Chickpea Seed Germination. Journal of Agricultural Machinery 12 (2): 231-240. (In Persian). DOI: 10.22067/jam.v12i2.88718.

Introduction

As the world's population grows, more food need to be produced. Plasma technology is one of the methods that can improve plant growth. Cold plasma is effective in increasing growth and germination indices. In this article, the effect of cold plasma based on corona discharge was investigated on germination of Adel, Mansur, and Azad chickpea varieties.

Materials and Methods

In the corona discharge method, a relative vacuum should be used. Corona discharge is formed when there are pronounced spatial in-homogeneities in the electric field, in particular, when the electric field exceeds the breakdown threshold in a limited spatial region. This commonly occurs when highly asymmetric electrodes are employed, such as a point and a plane. Thermodynamically corona is a very non-equilibrium process, creating a non-thermal plasma. The avalanche mechanism does not release enough energy to heat the gas in the corona region generally and ionize it, as occurs in an electric arc or spark. Only a small number of gas molecules take part in the electron avalanches and are ionized, having energies close to the ionization energy of 1- 3 ev, the rest of the surrounding gas is close to ambient temperature. Corona discharge is a weakly ionized non-equilibrium plasma based on the avalanche mechanism. If it reaches a close distance with a conductive material or increase the electrical field, it can create longer breakdown streamers and eventually create sparks. The system is designed to convert 220V voltage with a frequency of 50 Hz to 12 kV voltage with a frequency of 9 kHz. Two electrodes with a 2 cm distance are in a vacuum chamber with a negative pressure of 20 pounds per square inch. And the samples are placed between two electrodes. Experiment was performed in form of a.factorial experimental design based on a CRD. In this plan, treatments are randomly placed in experimental units. The type of factorial experiment performed is 3×3×2×2 and multiplied numbers are factor levels. Seed production year factor in two levels, moisture factor in two levels, Seed variety factor in three levels, and exposure duration factor in three levels were examined. Plasma-exposed seeds and non-exposed seeds were grown under the same conditions. The samples were selected completely randomly. The samples were wetted 24 hours before exposure. Then all 18 chickpeas were placed in a dish in order to observe proper repetition. Samples from each dish were exposed to cold plasma under the same conditions between samples for a specified period of time. After exposing the samples to cold plasma, samples of all dishes under the same conditions at 30 °C and 300 lux environmental light were examined for germination evaluation. For this purpose, samples of each dish were placed in a cover of cotton cloth. They got wet every 4 hours. After 48 hours, all samples were examined and the root length of each sample was measured.

Results and Discussion

The results showed that seeds exposed to plasma for 60 seconds had a faster germination speed than those without exposure. Also, seeds that were exposed to plasma for 30 seconds had a longer root length than those without exposure. According to the results of statistical analysis, exposure to cold plasma for 30 seconds has increased root length in Adel chickpea variety up to 12.5% and in Mansour variety up to 18%

Conclusion

After statistical analysis, appear that root length under the same conditions, during 30 seconds of exposure to cold plasma, is significant at 5% level from non-exposure and 60 seconds of exposure. Microscopic images of samples were examined on the outer surface and inner tissue of seed cell. Studies have shown that the outer surfaces of seeds exposed to cold plasma are smoother, less prominent and smaller contact angle than those without exposure to plasma. This change can increase the hydrophilicity of seeds. But cold plasma had no effect on cell tissue in terms of size and number.

Keywords: Cold plasma, Microscopic image, Chickpea, Germination

نشریه ماشین‌های کشاورزی
https://jame.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، ص ۲۴۰-۲۳۱

بررسی میکروسکوپی اثر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی بذر نخود

محسن فریدونی[۱]، حسین حاجی‌آقاعلیزاده[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۵

چکیده

با افزایش جمعیت جهان، نیاز به تولید مواد غذایی بیشتر نیز افزایش می‌یابد. فناوری پلاسما یکی از روش‌هایی است که می‌تواند رشد گیاه را بهبود بخشد. پلاسمای سرد در افزایش شاخص‌های رشد و جوانه‌زنی موثر است. در این مقاله، تأثیر پلاسمای سرد بر پایه تخلیه کرونا بر جوانه‌زنی ارقام نخود عادل، منصور و آزاد بررسی شد. در روش تخلیه کرونا، از خلا نسبی استفاده شد. پژوهش حاضر در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی انجام شد. بذرهای مواجه با پلاسما و بذرهای شاهد در شرایط یکسان برای جوانه‌زنی نگهداری شدند. نتایج نشان داد سرعت جوانه‌زنی در بذرهایی که به مدت ۶۰ ثانیه مواجهه با پلاسمای سرد داشتند، بیشتر از بذرهای بدون مواجهه بود. همچنین بذرهای ارقام عادل و منصور که به مدت ۳۰ ثانیه در مواجهه با پلاسمای سرد قرار گرفتند، دارای طول ریشه بیشتری نسبت به بذرهای بدون مواجهه بودند. پس از تجزیه و تحلیل آماری، مشخص شد که طول ریشه در شرایط یکسان، در مدت زمان مواجهه ۳۰ ثانیه در معرض پلاسمای سرد، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ نسبت به حالت‌های مواجهه ۶۰ ثانیه و بدون مواجهه با پلاسمای سرد دارد. تصاویر میکروسکوپی از سطح خارجی و بافت داخلی سلول بذر در نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها نشان دادند که سطوح خارجی بذرهای در معرض پلاسمای سرد نسبت به شاهد هموارتر، دارای برجستگی کمتر و زاویه سطح تماس کمتری هستند. این تغییر می‌تواند خاصیت آب‌دوستی را افزایش دهد. اما در مواجهه بذر با پلاسمای سرد، تغییری در بافت داخلی سلول مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: پلاسمای سرد، تصویر میکروسکوپی، جوانه‌زنی، نخود

مقدمه

افزایش تولید محصولات کشاورزی، از ضروریات زندگی بشر امروز است. از طرفی یکی از حبوبات پرمصرف نخود است و یکی از فناوری‌های به‌کار رفته در بهبود رشد گیاه، استفاده از پلاسمای سرد است. مطالعات مختلفی در مورد تأثیر پلاسما بر جوانه‌زنی بذر انجام شده است. در یک مطالعه، تیمار پلاسمای سرد برای بهبود جوانه‌زنی و افزایش محتوای فتوشیمیایی زیستی برنج قهوه‌ای جوانه‌زده بررسی شد (Yodpitak *et al.*, 2019). در مطالعه دیگری پیش‌بینی جوانه‌زنی در بسترهای بذر گیاهان غیر زراعی نیمه‌خشک مورد بررسی قرار گرفت (Rawlins *et al.*, 2012). برای پیش‌بینی جوانه‌زنی در کلزا از مدل ریاضی استفاده شد (Jian *et al.*, 2014). استفاده از پلاسمای مبتنی بر تخلیه الکتریکی کرونا بر تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نشاسته موز در تایوان بررسی شد (Wu *et al.*, 2018). پلاسمای سرد اتمسفری از طریق میدان متغیر باعث افزایش تخلیه کرونا نسبت به سد دی‌الکتریک برای کاربردهای مختلف گردید (Khamsen *et al.*, 2016a). پلاسمای کرونا و میدان‌های الکتریکی برای تصفیه آب استفاده شده‌اند (Banaschik *et al.*, 2016). توسعه سیستم پلاسمای کرونا با کنترل خودکار برای غیرفعال کردن پاتوژن در محیط کشت هیدروپونیک گوجه‌فرنگی بررسی شد (Takahashi *et al.*, 2018). توسعه دستگاه استریلیزاسیون با استفاده از جت پلاسمای غیرحرارتی بر پایه تخلیه کرونا با فشار هوا مورد مطالعه قرار گرفت (Kuwahara *et al.*, 2012). از جت پلاسمای تخلیه کرونا برای ضدعفونی میکروبی حوضچه خشک استفاده شد (Kim *et al.*, 2015). سطح ماده آلی و بیولوژیکی از طریق پلاسمای سرد جوی ناشی از تخلیه کرونا اصلاح شد (Khamsen *et al.*, 2016b). پیش‌تیمار پلاسمای سرد باعث بهبود جوانه‌زنی مارچوبه وحشی شد (Loporto *et al.*, 2019). اثر پلاسمای غیرحرارتی بر متغیرهای

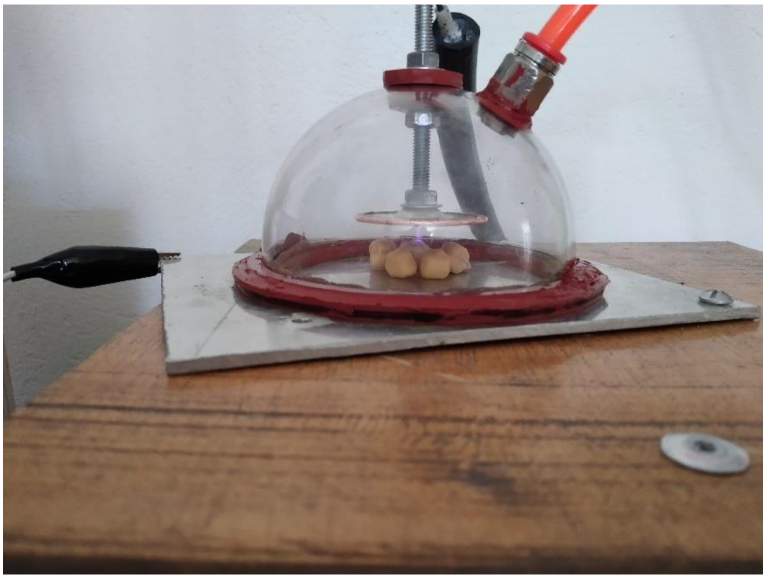
۱- دانشجوی دکتری، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- دانشیار، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: h-alizade@basu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jam.v12i2.88718

جوانه‌زنی بذرهای سویا بررسی شد (Perez *et al.*, 2018). پلاسما بر پایه تخلیه سد دی‌الکتریک میکروارگانیسم‌های روی بذرهای جوانه‌زده را غیرفعال نمود (Butscher *et al.*, 2016). در پژوهشی صفات کمی و کیفی نشاسته در طول جوانه‌زنی بذر شنبلیله بررسی شد. سنجش کمی و تصویربرداری میکروسکوپی نشان داد که مقدار نشاسته در ۴۸ ساعت پس از جوانه‌زنی به بالاترین میزان رسیده است (Bakhshy *et al.*, 2020). اثر آب مغناطیسی بر پنج رقم گندم در سطوح مختلف دو تیمار مدت زمان مواجهه و میدان مغناطیسی، مورد بررسی قرار گرفت (Zarei *et al.*, 2020). اما تاکنون تحقیقی برای بررسی تأثیر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی نخود انجام نشده است. در این پژوهش، تأثیر پلاسمای سرد بر پایه تخلیه کرونا بر جوانه‌زنی ارقام نخود عادل، منصور و آزاد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

سامانه پلاسمای سرد

تخلیه کرونا زمانی ایجاد می‌شود که ناهمگنی مکانی در میدان الکتریکی ایجاد شود، به‌ویژه هنگامی که میدان الکتریکی از یک آستانه شکست در یک منطقه محدود فراتر رود (Raizer *et al.*, 2011). این امر معمولاً هنگامی اتفاق می‌افتد که از الکترودهای بسیار نامتقارن مانند نقطه و صفحه استفاده شود (Misra *et al.*, 2016). از نظر ترمودینامیکی، کرونا یک فرآیند غیرتعادلی بوده و پلاسمای غیرحرارتی ایجاد می‌کند. این فرآیند، انرژی کافی را برای گرم کردن گاز در منطقه کرونا و یونیزه کردن آن آزاد نمی‌کند، همان‌طور که در یک قوس الکتریکی یا جرقه اتفاق می‌افتد. فقط تعداد کمی از مولکول‌های گاز در فرآیند بهمن الکترونی شرکت کرده و یونیزه می‌شوند و دارای انرژی نزدیک به انرژی یونیزاسیون هستند. دمای بقیه گازهای اطراف آن نزدیک به دمای محیط است. تخلیه کرونا، پلاسمای غیرتعادلی یونیزه ضعیف و مبتنی بر فرآیند بهمن الکترونی است. تصویر سامانه بر پایه تخلیه کرونا در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- تصویر سامانه پلاسمای سرد بر اساس تخلیه کرونا

Fig. 1. Image of cold plasma reactor based on corona discharge

این سامانه به نحوی طراحی شده است که ولتاژ ۲۲۰ ولت شهری با فرکانس ۵۰ هرتز را به ولتاژ ۱۲ کیلوولت با فرکانس ۹ کیلوهرتز تغییر می‌دهد. دو الکترود نیز با فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر در محفظه خلاء با فشار منفی ۲۰ پوند بر اینچ مربع قرار گرفته‌اند و نمونه‌ها در بین دو الکترود قرار می‌گیرند.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای جوانه‌زنی

از هر یک از رقم‌های نخود عادل، منصور و آزاد ۲۱۶ نمونه به‌طور تصادفی تهیه شد. سپس، در قالب یک طرح آزمایشی فاکتوریل، تأثیر پلاسما بر جوانه‌زنی بذر بررسی گردید. برای این منظور، آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در این طرح، تیمارها به‌طور تصادفی در واحدهای آزمایشی قرار می‌گیرند. فاکتور سال تولید بذر در دو سطح، فاکتور رطوبت در دو سطح، فاکتور ارقام بذر در سه سطح و فاکتور مدت زمان مواجهه با پلاسما در سه سطح مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶

استفاده شد.

محتوای رطوبتی بر پایه تر و خشک بذر ارقام نخود مورد آزمایش به‌ترتیب بر اساس روابط (۱) و (۲) محاسبه گردید (Mohsenin *et al.*, 1986):

$$M_w = \frac{W_w}{W_t} \times 100 = \frac{W_w}{W_w + W_d} \times 100 \qquad (۱)$$

$$M_d = \frac{W_w}{W_d} \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن‌ها M_w محتوای رطوبتی بر پایه تر، M_d محتوای رطوبتی بر پایه خشک، W_w وزن آب و W_d وزن ماده خشک می‌باشند.

قابلیت جوانه‌زنی یا درصد جوانه‌زنی، برای بذرهای موجود در هر ظرف بر اساس رابطه (۳) محاسبه شده است (Loporto *et al.*, 2019):

$$G = \frac{N}{N_t} \times 100 \qquad (۳)$$

که در آن

N تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر ظرف و N_t تعداد بذرهای موجود در هر ظرف است.

پتانسیل جوانه‌زنی به‌صورت درصد بیان شد و نسبت تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز دوم به تعداد بذرهای آزمایش شده است.

سرعت جوانه‌زنی برای بذور بر اساس رابطه (۴) محاسبه شد (Amnuaysin *et al.*, 2018):

$$G_i = \sum \frac{G_t}{D_t} \qquad (۴)$$

که در آن:

G_t تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز و D_t تعداد روزهای جوانه‌زنی است.

ابتدا بذر مادری ارقام نخود از مرکز تولید بذر در استان کرمانشاه تهیه شد. نمونه‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی انتخاب شدند. نیمی از تعداد کل نمونه‌ها ۲۴ ساعت قبل از مواجهه با پلاسما مرطوب شدند. سپس هر ۱۸ نخود به‌منظور رعایت تکرار مناسب در یک ظرف قرار داده شد. نمونه‌های درون هر ظرف برای مدت زمان مشخصی در مواجهه با پلاسمای سرد قرار گرفتند. پس از مواجهه نمونه‌ها با پلاسمای سرد، نمونه‌های همه ظروف تحت شرایط یکسان در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت روشنایی محیطی ۳۰۰ لوکس برای ارزیابی جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور، نمونه‌های هر ظرف در پوششی از پارچه نخی قرار داده و هر چهار ساعت، یک بار مرطوب شدند. پس از ۴۸ ساعت، تمام نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفته و طول ریشه هر نمونه، درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر ظرف اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه زیست‌شناسی مورد بررسی سلولی قرار گرفتند. بدین منظور از میکروسکوپ نوری[1] ساخت کشور آلمان با نسبت بزرگ‌نمایی ۲۰ و ۴۰ استفاده شد. به‌منظور بررسی میکروسکوپی، لایه‌هایی از سطح خارجی و بافت داخلی نمونه‌های مختلف برش داده شد. برای تشخیص بافت‌های مختلف از یکدیگر، بافت‌های گیاهی با استفاده از معرف رنگی (کارمن زاجی) رنگ‌آمیزی و پس از شستشو در آب مقطر مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. در نهایت با استفاده از یک دستگاه دوربین دیجیتال[2] که به میکروسکوپ متصل است، تصاویر با نسبت بزرگ‌نمایی هفت تهیه گردید. به‌منظور بررسی زاویه سطح تماس قطره آب با بذر، از میکروسکوپ نوری[3] ساخت کشور آلمان با نسبت بزرگ‌نمایی ۲۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل با متغیر وابسته طول ریشه، فاکتورهای مختلف و اثر متقابل آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

با توجه به مقادیر به‌دست آمده در ستون سطح معنی‌داری در جدول ۱، تفاوت معنی‌داری برای فاکتورهای رطوبت، زمان مواجهه و اثر متقابل سال تولید و فاکتورهای زمان مواجهه رشد ریشه با استفاده از مدل تحلیل واریانس دو طرفه قابل بررسی خواهد بود. دقت مدل پیاده‌سازی شده با $R^2 = 0.54$ بیان می‌شود. در ادامه نتایج بررسی اختلاف معنی‌دار بین گروه مدت زمان مواجهه با پلاسما، در ارتباط با متغیرهای وابسته سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه به‌ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. با توجه به این که یکی از متغیرهای اصلی در این بررسی، مدت زمان مواجهه با پلاسمای سرد می‌باشد و فرض مساوی بودن میانگین نیز رد شده است، بنابراین اثر مدت زمان مواجهه برای مقایسه میانگین انتخاب گردید.

یکی دیگر از متغیرهای مؤثر در جوانه‌زنی بذرها، رطوبت می‌باشد. محتوای رطوبتی بذر ارقام نخود مورد آزمایش به شرح جدول ۴ اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل جوانه‌زنی بر اساس متغیر زمان مواجهه با پلاسما

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، متوسط طول ریشه پس از ۴۸ ساعت نگهداری نمونه‌ها در شرایط جوانه‌زنی، در مدت زمان مواجهه ۳۰ ثانیه با پلاسمای سرد، در ارقام عادل و منصور بیشترین مقدار را دارد. مواجهه با پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه، طول ریشه در بذرهای رقم عادل ۱۲/۵٪ و رقم منصور، ۱۸٪ افزایش یافته است.

1- LEICA DMLS Model
2- Canon Powershot G11
3- Labomed Microscope CZM6

از آنجا که ذخیره کافی مواد مغذی برای رشد بذر ضروری است، افزایش متوسط طول ریشه به دلیل پلاسمای سرد می‌تواند باعث افزایش جذب و نفوذ ذخیره مواد مغذی به بذر شود. بنابراین احتمال تبدیل بذرهای بیشتری به گیاه و تولید محصول نیز افزایش می‌یابد.

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی

Table 1- Factorial analysis of variance analysis table in a completely randomized design

Source منبع	Sum of squares مجموع مربعات	df درجه آزادی	Mean square میانگین مربعات	F شاخص
مواجهه Exposure	3680.194	2	1840.097	89.374**
رطوبت Moisture	142.617	1	142.617	6.927**
سال Year	2888.000	1	2888.000	140.271**
رقم Variety	3189.454	2	1594.727	77.456**
مواجهه × رطوبت Exposure × Moisture	2396.207	2	1198.103	58.192**
مواجهه × سال Exposure × Year	618.287	2	309.144	15.015**
مواجهه × رقم Exposure × Variety	744.019	4	186.005	9.034**
رطوبت × سال Moisture × Year	376.599	1	376.599	18.291**
رطوبت × رقم Moisture × Variety	499.318	2	249.659	12.126**
سال × رقم Year × Variety	380.028	2	190.014	9.229**
مواجهه × رطوبت × سال Exposure× Moisture× Year	8.485	2	4.242	0.206ns
مواجهه × رطوبت × رقم Exposure×Moisture×Variety	90.136	4	22.534	1.094ns
مواجهه × سال × رقم Exposure × Year × Variety	1057.574	4	264.394	12.842**
رطوبت × سال × رقم Moisture × Year × Variety	205.892	2	102.946	5.000**
مواجهه × رطوبت × سال × رقم Exposure × Moisture × Year × Variety	272.802	4	68.201	3.313*
خطا Error	12600.333	216	20.589	
کل Total	112518.000	323		

** در سطح ۱٪ و * در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌داراست. ns به معنای عدم معنی‌داری است.

** Significant at the 0.01 level and * significant at the 0.05 level. ns means insignificance.

همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، بذرهای دارای مواجهه با پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بوده‌اند. با افزایش طول ریشه، سرعت جوانه‌زنی نیز به سمت بیشترین مقدار همگرا شده است. بیشترین مقدار طول ریشه نیز مربوط به بذرهای دارای مواجهه با پلاسما می‌باشد.

میزان تأثیر پلاسما بر درصد جوانه‌زنی ارقام نخود مورد آزمایش در شکل ۴ نمایش داده شده است. در رقم منصور مواجهه با پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه، موجب افزایش درصد جوانه‌زنی به میزان ۲٪ و مواجهه

۶۰ ثانیه، شاخص درصد جوانه‌زنی ۱۱٪ افزایش داشته است. در مجموع افزایش مدت زمان مواجهه در رشد شاخص درصد جوانه‌زنی مؤثر بوده است.

پیش‌تیمار بذر مارچوبه وحشی با پلاسمای سرد، موجب افزایش ۱۵٪ جوانه‌زنی، افزایش جذب آب در بذر و ضدعفونی سطح بذر گردیده است (Loporto *et al.*, 2019).

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین بین سرعت جوانه‌زنی و زمان مواجهه بر اساس روش LSD

Table 2- Multiple comparisons between germination speed and exposure time based on LSD method

(I) Exposure time زمان مواجهه	(J) Exposure time زمان مواجهه	Mean difference (I-J) اختلاف میانگین	Std. Error خطای استاندارد	Sig. سطح معنی‌داری	95% Confidence فاصله اطمینان: Lower bound حد پایین	95% Confidence فاصله اطمینان: Upper bound حد بالا
0	30	.417*	.097	.000	.23	.61
	60	-.083^{ns}	.097	.392	-.27	.11
30	0	-.417*	.097	.000	-.61	-.23
	60	-.500*	.097	.000	-.69	-.31
60	0	.083^{ns}	.097	.392	-.11	.27
	30	.500*	.097	.000	.31	.69

* در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌داراست و ns به معنای عدم معنی‌داری است.

* The mean difference is significant at the 0.05 level and ns means insignificance.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین بین طول ریشه و زمان مواجهه بر اساس روش LSD

Table 3- Results of comparison of mean between root length and exposure time based on LSD method

(I) Exposure time زمان مواجهه	(J) Exposure time زمان مواجهه	Mean difference (I-J) اختلاف میانگین	Std. Error خطای استاندارد	Sig. سطح معنی‌داری	95% Confidence فاصله اطمینان: Lower bound حد پایین	95% Confidence فاصله اطمینان: Upper bound حد بالا
0	30	.87*	.231	.000	.42	1.32
	60	.53*	.231	.022	.08	.99
30	0	-.87*	.231	.000	-1.32	-.42
	60	-.34*	.231	.144	-.79	.12
60	0	-.53^{ns}	.231	.022	-.99	-.8
	30	.34^{ns}	.231	.144	-1.2	.79

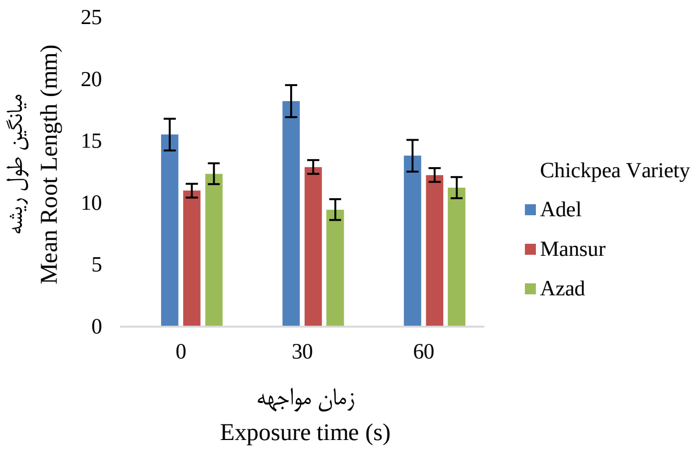
* در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است و ns به معنای عدم معنی‌داری است.

* The mean difference is significant at the 0.05 level and ns means insignificance.

جدول ٤- مقادیر محتوای رطوبتی بذر ارقام نخود: ۱. عادل، ۲. منصور و ۳. آزاد

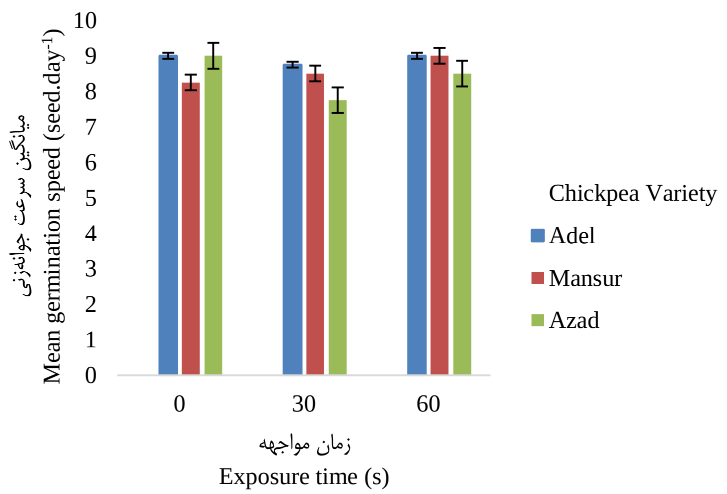
Table 4- Moisture content of chickpea varieties seed: 1. Adel, 2. Mansur and 3. Azad

Variable (%) متغیر (٪)	Max بیشینه	Min کمینه	Median میانه	Mean میانگین	SD انحراف معیار	CV (%) ضریب تغییرات (٪)
محتوای رطوبتی خشک ۱ Dry moisture content 1	15.80	2.85	7.41	7.49	2.37	31.64
محتوای رطوبتی خشک ۲ Dry moisture content 2	56.52	2.78	7.14	7.68	5.32	69.27
محتوای رطوبتی خشک ۳ Dry moisture content 3	11.11	3.33	7.32	7.22	1.83	25.35
محتوای رطوبتی تر ۱ Wet moisture content 1	13.04	2.78	6.78	6.89	1.99	28.82
محتوای رطوبتی تر ۲ Wet moisture content 2	36.11	2.70	6.67	6.96	3.40	48.85
محتوای رطوبتی تر ۳ Wet moisture content 3	10.00	3.22	6.86	6.71	1.60	23.84



شکل ۲- ارتباط میانگین طول ریشه با مدت زمان مواجهه با پلاسما

Fig. 2. Relationship between mean root length and plasma exposure time



شکل ۳- ارتباط بین سرعت جوانه‌زنی و مدت زمان مواجهه با پلاسما

Fig. 3. Relationship between germination speed and plasma exposure time

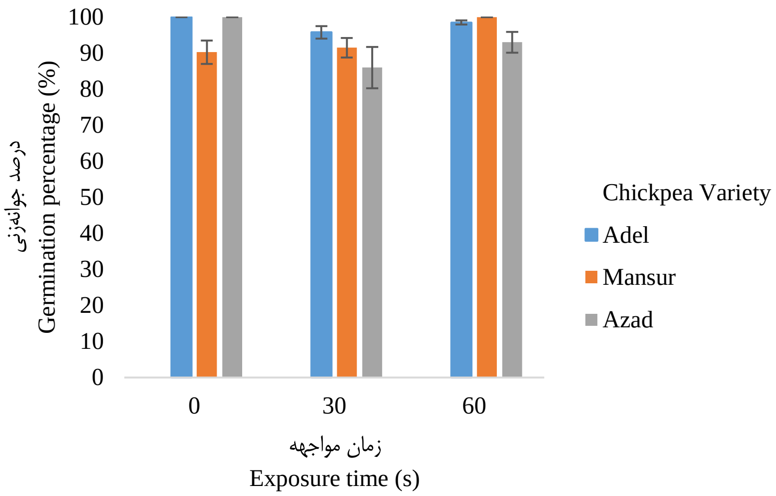
بررسی میکروسکوپی تغییرات سطح خارجی بذر در اثر قرار گرفتن در معرض پلاسمای سرد و اثر آن بر جوانه‌زنی بذر

در پلاسمای سرد، یون‌ها و الکترون‌ها وجود دارند. بنابراین، پلاسما می‌تواند سطح خارجی بذر را تحت تأثیر قرار داده و سطح بذر را هموار کند. در نتیجه هموار شدن سطح بذر و کاهش زاویه سطح تماس قطرات آب روی سطح بذر، آب‌دوستی[1] آن افزایش می‌یابد.

بر اساس تحقیق انجام شده بر روی بذر گندم، در اثر مواجهه با پلاسمای سرد، زاویه سطح تماس قطره آب کاهش یافته است (Shashikanthalu *et al.*, 2020). همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است تصاویر میکروسکوپی از پوسته خارجی بذر ارقام نخود در حالت‌های دارای مواجهه با پلاسما، نسبت به حالت بدون مواجهه، هموارتر هستند. از طرفی شکل ۶ نشان می‌دهد که زاویه سطح تماس قطره آب نیز نسبت به حالت شاهد، کاهش یافته است. قطره آب در تماس با سطح بذر شاهد، دارای زاویه بیشتر و سطح تماس کمتری با بذر است. در حالی‌که در حالت‌های تیمار با پلاسما زاویه کمتر و سطح تماس بیشتر گردیده است. این موضوع می‌تواند دلیلی بر افزایش رشد طول ریشه و دیگر شاخص‌های جوانه‌زنی باشد.

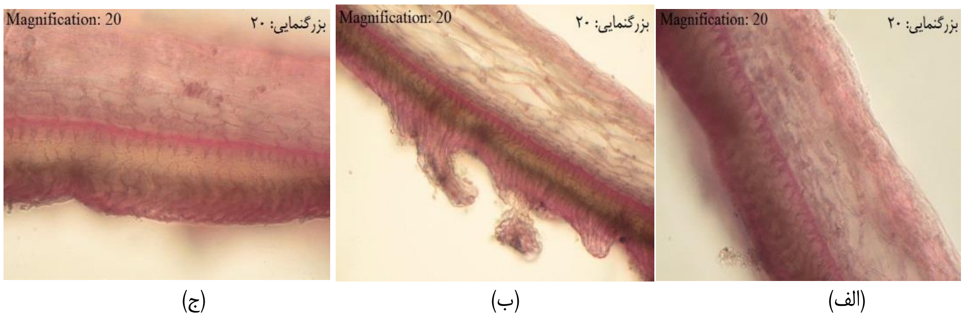
همان‌گونه که تیمار میدان الکتریکی ناشی از تخلیه کرونا، ساختار شیمیایی لایه‌های بذر یونجه را تغییر داده و در نتیجه تغییراتی در آب‌دوستی آن ایجاد کرده است (Xinyu *et al.*, 2020).

1- Hydrophilic



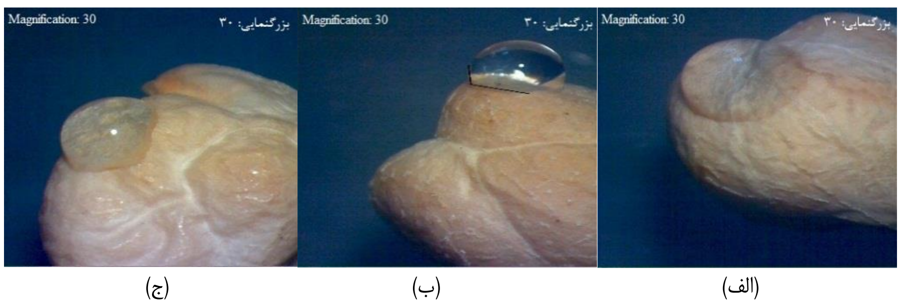
شکل ٤- تأثیر زمان مواجهه بذرهای انواع نخود با پلاسمای سرد بر درصد جوانه‌زنی

Fig. 4. The effect of exposure time of chickpea seeds to cold plasma on germination percentage



شکل ٥- تصویر میکروسکوپ نوری از سطح خارجی بذر: الف. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه.

Fig. 5. Microscopic images of outer surface of seeds: a. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 without exposure. b. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 30 seconds. C. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 60 seconds



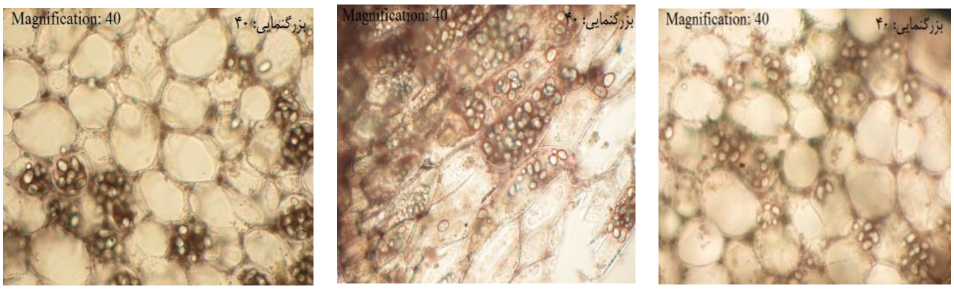
شکل ٦- تصویر میکروسکوپ نوری از زاویه سطح تماس قطره آب با بذر: الف. رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل خشک، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه

Fig. 6. Microscopic images of contact surface angle of water drop with seeds: a. Dry Adel chickpea variety producted in 2020 without exposure. b. Dry Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 30 seconds. C. Dry Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 60 seconds

بررسی تغییرات سلول‌های بذر نخـود در اثـر مواجهـه بـا پلاسمای سرد

از آن‌جایی که جنس دیـواره سـلول‌هـای گیـاهی در بافـت‌هـای مختلف متفاوت است، پس سلول‌های مختلف رنـگ‌هـای متفـاوتی را جذب می‌کنند. بنابراین برای تشخیص بافت‌های مختلف از یکـدیگر، رنگ‌آمیزی سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفت. بررسی سلولی نشان داد که تغییری در بافت سلول‌های داخلی نخود رخ نداده است. همچنـین تغییری در سلول‌های بذر نخود در مواجهه با پلاسـما از نظـر تعـداد و اندازه سلول صورت نگرفته است.

همچنین تحقیقاتی که بر روی بذرهای گیاهـان گوجـه‌فرنگـی و فلفل انجام شده است نیز تغییـر در سـاختار DNA اولیـه، فنوتیـپ و فنولوژی گیاهان را در اثر تیمار بذرها قبل از جوانه‌زنی با پلاسما نشان نداده است (Shapira *et al.*, 2019).



(ج) (ب) (الف)

شکل ۷- تصویر میکروسکوپ نوری از بافت سلول بذر: الف. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ بدون مواجهه با پلاسما. ب رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۳۰ ثانیه. ج. رقم نخود عادل مرطوب، تولید سال ۱۳۹۹ با مواجهه پلاسما به مدت ۶۰ ثانیه

Fig. 7. Microscopic images of cell texture of seeds: a. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 without exposure. b. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 30 seconds. c. Wet Adel chickpea variety producted in 2020 with Corona for 30 seconds

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری، مواجهه با پلاسـمای سـرد به مدت ۳۰ ثانیه، طول ریشه را در نخود رقـم عـادل تـا ۱۲/۵٪ و در رقم منصور تا ۱۸٪ افزایش داده است. از طرفی در مواجهه بـه مـدت ۶۰ ثانیه، ارقام مورد آزمایش دارای بیشترین سرعت جوانه‌زنی بوده‌اند. این تغییرات دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند. از سوی دیگر در بررسی میکروسکوپی سطح خارجی بذر، مشخص گردید ارقام مختلف در مواجهه با پلاسمای سرد دارای سـطحی همـوارتر و زاویـه سطح تماس کمتری هستند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که یکی از تأثیرات پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی بذر نخـود، افـزایش آب‌دوسـتی و گسترش بیشتر و بهتر ریشه گیاه است. این موضوع مـی‌توانـد باعـث افزایش جذب آب و حتی کـاهش آب آبیـاری شـود. همچنـین باعـث جذب مواد مغذی و بهبود تغذیه گیاه خواهد شد. ریشه‌های قوی‌تر بـه مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطـی کمـک مـی‌کننـد. از سـوی دیگر، استفاده از فنـاوری پلاسـمای سـرد سـاده اسـت و تغییـری در سلول‌های داخلی بذر نخود ایجاد نمی‌کند.

References

1. Amnuaysin, N., H. Korakotchakorn, S. Chittapun, and N. Poolyarat. 2018. Seed germination and seedling growth of rice dielectric barrier discharge plasma. Songklanakarin Journal of Science & Technology 40: 819-823.
2. Bakhshy, E., F. Zarinkamar, and M. Nazzari. 2020. Structural and quantitative changes of starch in seed of Trigonella persica during germination. International Journal of Biological Macromolecules 164: 1284-1293.
3. Banaschik, R., G. Burchhardt, K. Zocher, S. Hammerschmidt, J. F. Kolb, and K. Weltmann. 2016. Comparison of pulsed corona plasma and pulsed electric fields for the decontamination of water containing Legionella pneumophila as model organism. Bioelectrochemistry 112: 83-90.
4. Butscher, D., H. Van Loon, A. Waskow, P. Rudolf von Rohr, and M. Schuppler. 2016. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. International Journal of Food Microbiology 238: 222-232.
5. Jian, F., K. Sun, V. Chelladurai, D. S. Jayas, and N. White. 2014. Quality changes in high and low oil content canola during storage: Part II – Mathematical models to predict germination. Journal of Stored Products Research

59: 328-37.
6. Khamsen, N., A. Akkarachanchainon, K. Fookiat, J. Srisala, S. Chomchuen, W. Kanokbannakorn, and S. Srisonphan. 2016a. Atmospheric Cold Plasma via Fringe Field Enhanced Corona Discharge on Single Dielectric Barrier for Large-volume Applications. Procedia Computer Science 86: 321-24.
7. Khamsen, N., A. Akkarachanchainon, N. Teerakawanich, and S. Srisonphan. 2016b. Organic and Bio Material Surface Modification Via Corona Discharge Induced Atmospheric-cold Plasma. Procedia Computer Science 86: 325-28.
8. Kim, J., P. Puligundla, and Ch. Mok. 2015. Microbial decontamination of dried laver using corona discharge plasma jet (CDPJ). Journal of Food Engineering 161: 24-32.
9. Kuwahara, T., T. Kuroki, K. Yoshida, N. Saeki, and M. Okubo. 2012. Development of sterilization device using air nonthermal plasma jet induced by atmospheric pressure corona discharge. Thin Solid Films 523: 2-5.
10. LoPorto, Ch., L. Sergio, F. Boari, A. F. Logrieco, and V. Cantore. 2019. Cold plasma pretreatment improves the germination of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.) seeds. Scientia Horticulturae 256: 108554.
11. Misra, N. N., O. K. Schluter, and P. J. Cullen. 2016. Cold plasma in food and agriculture. Elsevier Inc.
12. Mohsenin, N. N. 1986. Physical properties of plant and animal materials.
13. Perez, P., M. Cecilia, L. Prevosto, C. Zilli, E. Cejas, H. Kelly, and K. Balestrasse. 2018. Effects of non-thermal plasmas on seed-borne Diaporthe/Phomopsis complex and germination parameters of soybean seeds. Innovative Food Science & Emerging Technologies 49: 82-91.
14. Raizer, Y. 2011. Gas discharge physics. Springer. New York.
15. Rawlins, J. K., B. A. Roundy, D. Egget, and N. Cline. 2012. Predicting germination in semi-arid wildland seedbeds II. Field validation of wet thermal-time models. Environmental and Experimental Botany 76: 68-73.
16. Shapira, Y., E. Bormashenko, and E. Drori. 2019. Pre-germination plasma treatment of seeds does not alter cotyledon DNA structure, nor phenotype and phenology of tomato and pepper plants. Biochemical and Biophysical Research Communications 1: 100259.
17. Shashikanthalu, S. P., L. Ramireddy, and M. Radhakrishnan. 2020. Stimulation of the germination and seedling growth of *Cuminum Cyminum* L. seeds by cold plasma. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 519: 512-517.
18. Takahashi, K., Y. Saito, R. Oikawa, T. Okumura, K. Takaki, and T. Fujio. 2018. Development of automatically controlled corona plasma system for inactivation of pathogen in hydroponic cultivation medium of tomato. Journal of Electrostatics 91: 61-69.
19. Wu, T., N. Sun, and Ch. Chau. 2018. Application of corona electrical discharge plasma on modifying the physicochemical properties of banana starch indigenous to Taiwan. Journal of Food and Drug Analysis 26: 244-51.
20. Xinyu, L., Z. Song, W. Xu, Y. Li, Ch. Ding, and H. Chen. 2020. Spectral characteristics on increasing hydrophilicity of alfalfa seeds treated with alternating current corona discharge field. Biomolecular Spectroscopy. 236: 118350.
21. Yodpitak, S., S. Mahatheeranont, D. Boonyawan, Ph. Sookwong, S. Roytrakul, and O. Norkaew. 2019. Cold plasma treatment to improve germination and enhance the bioactive phytochemical content of germinated brown rice. Food Chemistry 289: 328-39.
22. Zarei, S., M. Kasraei, and M. A. Nematollahi. 2020. Investigating the impact of the magnetized water on the growth and germination of five wheat grain seeds. Journal of Agricultural Machinery 10 (2): 289-298. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22067/jam.v10i2.76707.